Product sheet

T84 Клітини | 300354

Загальна інформація

Description	Ця лінія має щільні з'єднання і десмосоми між сусідніми клітинами. Клітини слід підтримувати при високій щільності (принаймні 1/4 злиття).
Organism	Людина
Tissue	Двоєточие
Disease	Карцинома
Metastatic site	Легені
Applications	Дослідження раку товстої кишки; біологія епітелію кишечника; дослідження щільних з’єднань та бар’єрної функції; фізіологія транспорту в товстій кишці; дослідження регулятора трансмембранної провідності при муковісцидозі (CFTR); всмоктування та метаболізм лікарських засобів; моделі ксенотрансплантатів
Synonyms	T-84, T 84

Характеристики

Age	72 роки
Gender	Чоловік
Ethnicity	Етнічна приналежність не вказана
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епітеліальні клітини
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	T84 (номер за каталогом Cytion 300354)
Biosafety level	1

T84 Клітини | 300354

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0555
GMO Status	Без генетичних модифікацій; клітинна лінія карциноми товстої кишки дикого типу (гетерозиготна мутація KRAS G13D є ендогенною соматичною зміною, а не модифікацією, отриманою шляхом генної інженерії)

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	Пептидний гормон, нейромедіатор
Antigen expression	Кератин + (фарбування імунопероксидазою)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2
Tumorigenic	Так, у голих мишей
Products	Карциноембріональний антиген (CEA), 600 нг/мл на 10 клітин експ6 протягом 10 днів, кератин
Mutational profile	Клітини T84 несуть гетерозиготну мутацію Kras у кодоні 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)
Karyotype	Кількість модальних хромосом стовбурової лінії становить 56, що зустрічається у 28%, а поліплоїдія - у 12,4%. Вісімнадцять маркерів є спільними для більшості досліджених метафаз. Нормальна X-хромосома і хромосома 13 були відсутні, хромосоми 2, 4 і 22 були однокопійованими, а хромосома 12 - 4-копійованою, Y-хромосома не була виявлена за допомогою Q-смуги. ЦД зустрічався майже в 50% клітин.

Обробка

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 мМ стабільний глютамін, w: 1,0 мМ піруват натрію, w: 1,1 г/л NaHCO3 (Cytion артикул 820600a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	приблизно від 48 до 72 годин

T84 Клітини | 300354

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	від 1 до 3
Seeding density	від 1 до 2 × 10^4 клітин/$см^2$ (підтримувати щільність покриття не менше 1/4, щоб зберегти фенотип щільних з'єднань)
Fluid renewal	2 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 × 10^4 клітин/$см^2$ і дайте їм прикріпитися протягом щонайменше 24–48 годин. Підтримуйте клітини у стані високої щільності (конфлюенція ≥25%), щоб забезпечити формування щільних з'єднань.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

T84 Клітини | 300354

Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища. 7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин. 8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

T84 Клітини | 300354

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**A***: '02:01:01, '24:02:01 **B***: '18:01:01, '35:01:01 **C***: '04:01:01, '07:01:01 **DRB1***: '01:01:01, '09:01:02 **DQA1***: '01:01:01, '03:02:01 **DQB1***: '03:03:02, '05:01:01 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:03:01, '01:03:02